

Оригинальная статья / Original article

УДК 579

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-719-727>



## Исследование влияния нефти на биологическую активность черноземной почвы

© Е.Ю. Руденко

Самарский государственный технический университет, г. Самара, Российская Федерация

**Резюме:** Изучено воздействие нефти на микроорганизмы и ферментативную активность черноземной почвы. Исследования проводили на черноземе оподзоленном среднесуглинистом Самарской области, используя высокосернистую нефть средней плотности. На 1 кг почвы вносили 10,00 г (1%), 30,00 г (3%) или 50,00 г (5%) нефти. Результаты исследований показали, что среди аборигенной микробиоты почвы имеется большое разнообразие родов микроорганизмов, способных окислять и отдельные углеводороды, и сырую нефть в целом. Наибольшую активность при деградации как отдельных углеводородов, так и сырой нефти в целом проявили бактерии родов *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, мицелиальные грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium* и дрожжи рода *Candida*. При свежем загрязнении нефтью наблюдалось повышение численности бактерий, использующих органические формы азота, актиномицетов, грибов, углеводородокисляющих микроорганизмов, также отмечена тенденция к увеличению численности автохтонных микроорганизмов, участвующих в минерализации гумусовых веществ. Через 3 месяца исследований было выявлено снижение численности бактерий, использующих органические формы азота, и актиномицетов; численность грибов больше всего снижается при внесении в почву 3 и 5% нефти, а численность автохтонных микроорганизмов, участвующих в минерализации гумусовых веществ, и углеводородокисляющих микроорганизмов возрастает при повышении степени нефтяного загрязнения. Угнетение различных групп микроорганизмов путем физического или токсического воздействия углеводородов сырой нефти может быть причиной снижения активности различных ферментов черноземной почвы. Углеводороды нефти подавляют активность полифенолоксидазы, каталазы, инвертазы, фосфатазы и липазы черноземной почвы, но незначительно стимулируют активность ее пероксидазы. Уменьшение коэффициента гумификации свидетельствует о преобладании процессов окисления гумусовых веществ над превращением органических соединений ароматического ряда в компоненты почвенного гумуса, а также об уменьшении плодородия почвы в результате ее загрязнения углеводородами сырой нефти.

**Ключевые слова:** черноземная почва, загрязнение, нефть, микроорганизмы, ферменты.

**Для цитирования:** Руденко Е.Ю. Исследование влияния нефти на биологическую активность черноземной почвы. Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 4. С. 719–727. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-000-000>

## Effects of crude oil on the biological activity of chernozem soils

Elena Yu. Rudenko

Samara State Technical University, Samara, Russian Federation

**Abstract:** The article investigates the effect of crude oil on soil microorganisms and the enzymatic activity of chernozem soils. Experiments were carried out on podzolized medium loamy chernozem in the Samara region using high-sulphur crude oil of medium density. Per 1 kg of soil, 10.00 g (1%), 30.00 g (3%) and 50.00 g (5%) of oil were applied. According to the obtained results, the native soil microbiota contains a wide variety of microorganisms capable of oxidizing both individual hydrocarbons and crude oil in general. Bacteria of the *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas* and *Streptomyces* genera, filamentous fungi of the *Aspergillus* and *Penicillium* genera, as well as *Candida* yeast showed the greatest activity in the degradation of both individual hydrocarbons and crude oil in general. The soils freshly polluted with oil demonstrated an increase in the number of bacteria that consume organic forms of nitrogen, actinomycetes, fungi and hydrocarbon-oxidizing microorganisms. In addition, a growing trend in the number of autochthonous microorganisms participating in the mineralization of humic substances was observed. Following 3 months of experiments, a decrease in the number of bacteria consuming organic forms of nitrogen and actinomycetes was revealed. The number of fungi showed the most pronounced decrease upon addition of 3 and 5% of oil,

while the number of autochthonous microorganisms participating in the mineralization of humic substances and hydrocarbon-oxidizing microorganisms grew with an increase in the degree of oil pollution. Inhibition of various microorganisms by means of physical or toxic action of hydrocarbons contained in crude oil can cause a decrease in the activity of enzymes present in chernozem soils. Oil hydrocarbons inhibit the activity of polyphenol oxidase, catalase, invertase, phosphatase and lipase present in chernozem soils, although slightly stimulating the peroxidase activity. A decrease in the soil humification coefficient indicates that the oxidation of humic substances prevail over the decomposition of organic aromatic compounds into soil humus components, as well as a decrease in soil fertility as a result of its contamination with crude oil hydrocarbons.

**Keywords:** chernozem soils, pollution, oil, microorganisms, enzymes

**For citation:** Rudenko E.Yu. Effects of crude oil on the biological activity of chernozem soils. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2020;10(4):719–727. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-719-727>

## ВВЕДЕНИЕ

Процессы добычи, транспортировки переработки нефти представляют серьезную опасность для окружающей среды в связи с большим количеством аварийных ситуаций, регулярно возникающих в этих отраслях хозяйственной деятельности человека. В местах загрязнения сырой нефтью или другими органическими загрязнителями наблюдается развитие микроорганизмов, способных к их окислению [1–5]. Процессы разложения углеводов в почвах протекают при участии ферментов, выделяемых микроорганизмами. Изменение микробиологической и ферментативной активности является одним из показателей воздействия углеводородов нефти на биогеоценоз почвы [6]. Изучение биологической активности необходимо для планирования и проведения ремидиационных мероприятий, направленных на восстановление плодородия почвы. Цель настоящего исследования – изучение воздействия нефти на микроорганизмы и ферментативную активность черноземной почвы.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводили на черноземной почве (рН водной вытяжки –  $7,03 \pm 0,20$ ) Самарской области, используя высокосернистую нефть средней плотности (массовая доля серы 2,07%). В 1-й серии опытов на 1 кг почвы добавляли 10,00 г (1%) нефти, во 2-й серии – 30,00 г (3%), а в 3-й серии – 50,00 г (5%) и инкубировали в течение 3-х месяцев при температуре  $30,0 \pm 1,0$  °С. Контролем служила почва, не загрязненная нефтью.

Анализ микробиологического состава биоценоза почвы и количественный учет различных фи-

зиологических групп микроорганизмов проводили на селективных питательных средах. Для выявления бактерий использовали питательный агар, актиномицетов – крахмало-аммиачный агар, грибов – агаризованное солодовое сусло, автохтонных микроорганизмов – почвенный агар<sup>1,2</sup>, углеводородокисляющих микроорганизмов – агаризованную минеральную среду Маккланга<sup>3</sup>. На основании морфологических, культуральных, физиологических и биохимических свойств, определенных стандартными методами, принятыми в микробиологической практике<sup>1,2</sup>, устанавливали родовую принадлежность выделенных штаммов микроорганизмов<sup>4,5</sup> [7].

Способность углеводородокисляющих микроорганизмов использовать в качестве единственного источника углерода различные алканы, ароматические и полициклические ароматические углеводороды или углеводороды исследуемой сырой нефти в массовой концентрации 10,00 г/л (1%) исследовали на минеральной среде Маккланга<sup>3</sup> после инкубирования в термостате в течение 7 суток при температуре  $30,0 \pm 1,0$  °С. Рост микроорганизмов определяли визуально по наличию и интенсивности помутнения среды после инкубирования.

Способность утилизации нефти массовой концентрации 10,00 г/л (1%) чистыми культурами микроорганизмов, имеющими концентрацию белка 1,00 мг/л, исследовали на среде Маккланга после инкубации в течение 20 суток при температуре  $30,0 \pm 1,0$  °С<sup>2</sup>. Остаточное содержание углеводов и сырой нефти проводили методом колоночной хроматографии с УФ-спектрофотометрической детекцией<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований: учеб. пособие; под ред. А.С. Лабинской, Л.П. Блинковой, А.С. Ещиной. СПб.: Лань, 2016. 588 с.

<sup>2</sup>Практикум по микробиологии: учеб. пособие для студентов высших учебных заведений; под ред. А.И. Нетрусова. М.: ИЦ «Академия», 2005. 608 с.

<sup>3</sup>Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии: учеб. пособие для вузов; 5-е изд., перераб. и доп. М.: Дрофа, 2004. 256 с.

<sup>4</sup>Бабьева И.П., Чернов И.Ю. Биология дрожжей: учеб. пособие. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2004. 221 с.

<sup>5</sup>Watanabe T. Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species. Florida: CRC Press, 2002. 486 p.

<sup>6</sup>Другов Ю.С., Родин А.А. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов. Практическое руководство. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. 270 с.

Активности окислительно-восстановительных (каталазы, пероксидазы и полифенолоксидазы) и гидролитических (инвертазы, фосфатазы и липазы) ферментов почвы определяли титрометрическими и колориметрическими методами [8] через 0,5 и 3 мес. после начала опытов. Коэффициент гумификации вычисляли как отношение активности полифенолоксидазы к активности пероксидазы [9]. При расчете степени уменьшения коэффициента гумификации за 100% принимали коэффициент гумификации не загрязненной нефтью почвы через 0,5 мес. после начала опытов.

Эксперименты проводили в трехкратной повторности, исследования каждой пробы осуществляли также в трех повторностях. При обсуждении результатов учитывали статистически достоверные различия при  $p < 0,05$ . Математическую обработку результатов проводили с применением программы Statistica.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенные исследования показали, что среди аборигенной микробиоты черноземной среднесуглинистой почвы Самарской области имеется большое разнообразие родов микроорганизмов, способных окислять как отдельные углеводороды, так и сырую нефть в целом (таблица). n-Алканы наиболее активно способны окислять бактерии рода *Acinetobacter* и дрожжи рода *Candida*. Из всех изученных алканов подавляющее большинство микроорганизмов, выделенных из черноземной почвы, могут окислять

гексадекан. Меньше всего родов микроорганизмов способны утилизировать декан и ундекан. Самую высокую активность в утилизации ароматических и полициклических ароматических углеводородов проявляют бактерии родов *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas* и мицелиальные грибы рода *Aspergillus*. Бактерии рода *Alcaligenes* способны утилизировать все изученные ароматические углеводороды, но из полициклических ароматических углеводородов они могут ассимилировать только нафталин. У бактерий рода *Chromobacterium* обнаружена способность использовать ароматические углеводороды, но не полициклические ароматические углеводороды. Мицелиальные грибы родов *Penicillium* и *Rhizoctonia* способны разлагать полициклические ароматические углеводороды, но не могут ассимилировать ароматические углеводороды.

Чистые культуры бактерий и грибов, выделенных из черноземной почвы, проявили высокую активность при деградации сырой нефти на среде Маккланга (рис. 1).

Аборигенные микроорганизмы черноземной среднесуглинистой почвы Самарской области показали высокую степень деградации нефти при инкубировании загрязненной почвы в течение трех месяцев в лабораторном опыте. При среднем уровне загрязнения почвы степень деградации нефти составила  $57,76 \pm 1,73\%$ , при высоком –  $66,69 \pm 1,67\%$ , а при очень высоком –  $73,44 \pm 2,20\%$ .

Микроорганизмы почвы, способные ассимилировать углеводороды  
 Soil microorganisms capable to assimilate hydrocarbons

Группа микроорганизмов	Род микроорганизмов	Соединение массовой концентрации 10,00 г/л (1%)											Нефть	
		Алканы					АУ				ПАУ			
		Гексадекан	Гептан	Декан	Октан	Ундекан	Бензол	Ксилол	Толуол	Этилбензол	Антрацен	Нафталин		Фенантрен
Бактерии	<i>Acinetobacter</i>	±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Alcaligenes</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+
	<i>Bacillus</i>	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Chromobacterium</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+
	<i>Corynebacterium</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	±
	<i>Flavobacterium</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	±
	<i>Micrococcus</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
	<i>Mycobacterium</i>	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas</i>	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
Актиномицеты	<i>Streptomyces</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Мицелиальные грибы	<i>Aspergillus</i>	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	<i>Mucor</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
	<i>Penicillium</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	<i>Rhizoctonia</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	±	±
	<i>Rhizopus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
	<i>Trichoderma</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
Дрожжи	<i>Candida</i>	+	-	+	±	+	-	-	-	-	-	-	-	+
	<i>Rhodotorula</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Примечание. АУ – ароматические углеводороды; ПАУ – полициклические ароматические углеводороды; «+» – наличие роста; «-» – отсутствие роста, «±» – слабый рост.

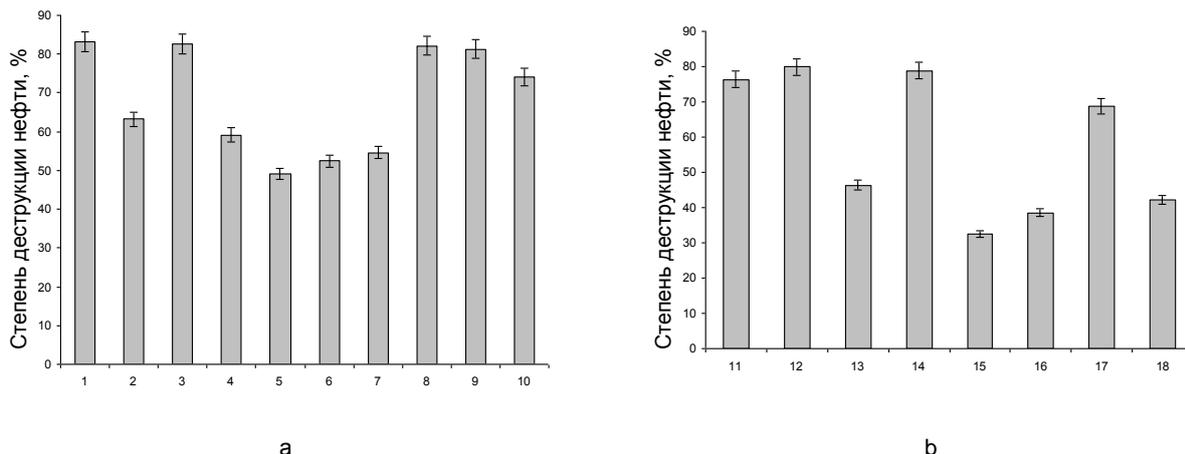


Рис. 1. Деградикация нефти чистыми культурами бактерий (а) и грибов (б):

1 – *Acinetobacter*; 2 – *Alcaligenes*; 3 – *Bacillus*; 4 – *Chromobacterium*; 5 – *Corynebacterium*; 6 – *Flavobacterium*; 7 – *Micrococcus*; 8 – *Mycobacterium*; 9 – *Pseudomonas*; 10 – *Streptomyces*; 11 – *Aspergillus*; 12 – *Candida*; 13 – *Mucor*; 14 – *Penicillium*; 15 – *Rhizoctonia*; 16 – *Rhizopus*; 17 – *Rhodotorula*; 18 – *Trichoderma*

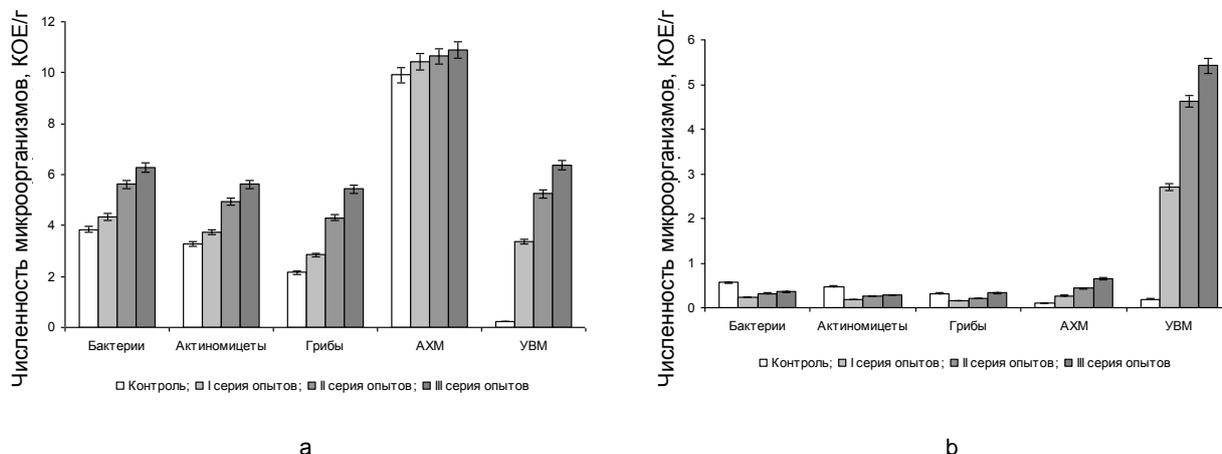
Fig. 1. Oil degradation by pure cultures of bacteria (a) and mushrooms (b):

1 – *Acinetobacter*; 2 – *Alcaligenes*; 3 – *Bacillus*; 4 – *Chromobacterium*; 5 – *Corynebacterium*; 6 – *Flavobacterium*; 7 – *Micrococcus*; 8 – *Mycobacterium*; 9 – *Pseudomonas*; 10 – *Streptomyces*; 11 – *Aspergillus*; 12 – *Candida*; 13 – *Mucor*; 14 – *Penicillium*; 15 – *Rhizoctonia*; 16 – *Rhizopus*; 17 – *Rhodotorula*; 18 – *Trichoderma*

При исследовании группового состава микроорганизмов по истечению 0,5-месячного периода при повышении степени нефтяного загрязнения наблюдалось повышение численности бактерий, использующих органические формы азота, актиномицетов, грибов, углеводородокисляющих микроорганизмов, также была отмечена тенденция к увеличению численности автохтонных микроорганизмов, участвующих в минерализации гумусовых веществ (рис. 2). Через 3 месяца исследований было выявлено снижение численности бактерий, использующих органические формы азота, и актиномицетов. Отмечено, что численность грибов больше всего снижается при среднем и высоком уровнях загрязнения почвы нефтью, а численность автохтонных микроорга-

низмов, участвующих в минерализации гумусовых веществ и углеводородокисляющих микроорганизмов, возрастает при повышении степени нефтяного загрязнения.

Загрязнение сырой нефтью оказывает негативное воздействие на ферментативную активность чернозема оподзоленного среднесуглинистого Самарской области. Под действием углеводородов уменьшается активность подавляющего большинства исследованных окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов почвы (рис. 3, 4). Обнаружено, что сырая нефть подавляет активность полифенолоксидазы, каталазы, инвертазы, фосфатазы и липазы, но незначительно стимулирует активность пероксидазы.



Примечание. Численность бактерий, актиномицетов и углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ)  $\cdot 10^6$ ; грибов –  $\cdot 10^4$ ; автохтонных микроорганизмов (АХМ) –  $\cdot 10^7$ .

Рис. 2. Численность микроорганизмов черноземной почвы через 0,5 мес. (а) и 3 мес. (б) проведения опытов

Fig. 2. Microorganism number in chernozem soils after 0,5 months (a) and 3 months (b) carrying out of experiment

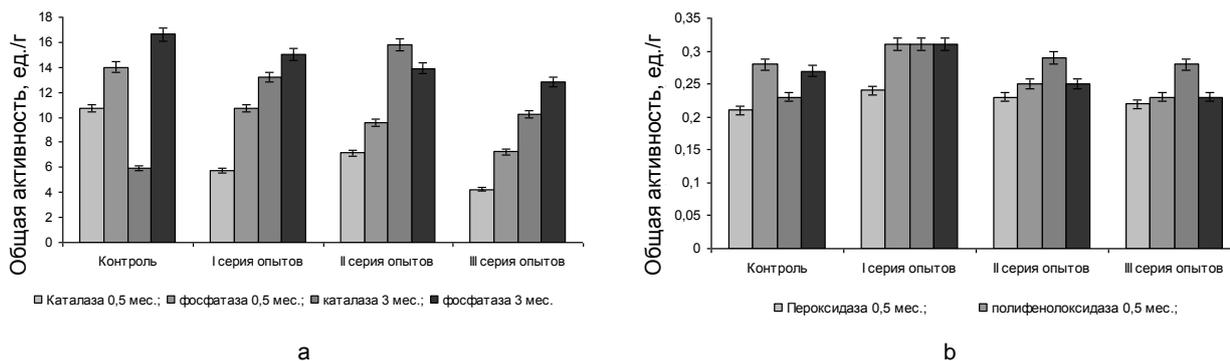


Рис. 3. Изменение активности каталазы и фосфатазы (а), пероксидазы и полифенолоксидазы (б) черноземной почвы при различных уровнях загрязнения нефтью

Fig. 3. Change in chernozem soil enzyme activity at various levels of oil contamination: catalase and phosphatase (a), peroxidase and polyphenol oxydase (b)

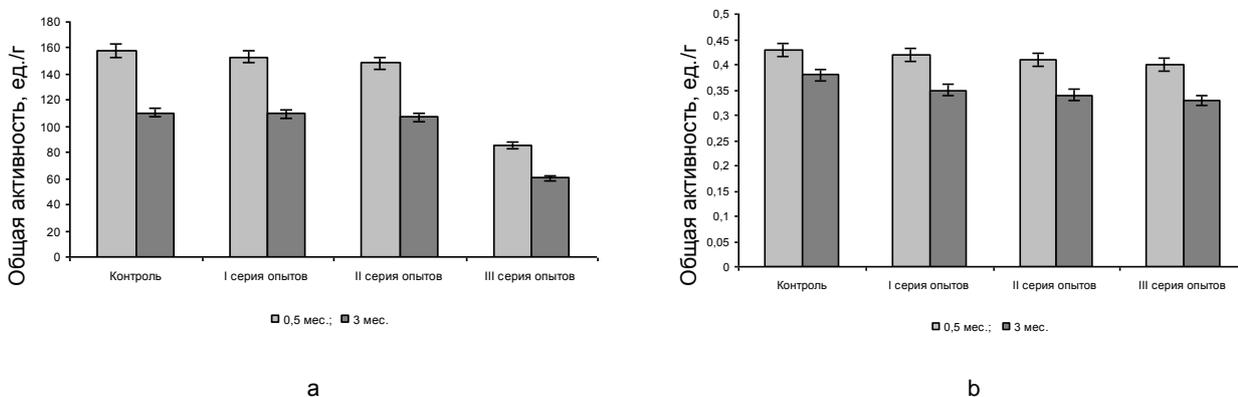


Рис. 4. Изменение активности инвертазы (а) и липазы (б) черноземной почвы при различных уровнях загрязнения нефтью

Fig. 4. Change of invertase (a) and lipase (b) activity in chernozem soils at various levels of oil contamination

Показатель активности пероксидазы позволяют судить об интенсивности протекания процессов окисления гумусовых веществ в почве, а при исследовании активности полифенолоксидазы можно оценить превращение органических соединений ароматического ряда в компоненты почвенного гумуса. Вычисление отношения активности полифенолоксидазы к активности пероксидазы позволяет рассчитать коэффициент гумификации (рис. 5), который дает возможность оценить преобладание катализируемых процессов.

Значительное снижение коэффициента гумификации черноземной почвы при загрязнении нефтью позволяет утверждать, что окисление гумусовых веществ преобладает над превращениями органических соединений ароматического ряда в компоненты почвенного гумуса, а также об уменьшении плодородия почвы в результате ее загрязнения углеводородами сырой нефти.

Многие исследователи отмечают различные изменения численности и видового состава аби-

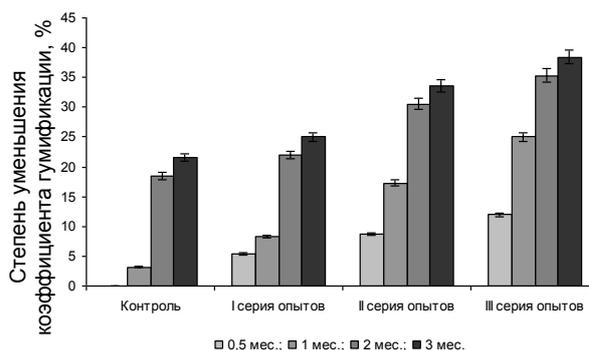


Рис. 5. Уменьшение коэффициента гумификации черноземной почвы

Fig. 5. Reduction of humification coefficient of chernozem soil

ригенных микроорганизмов почвы при ее загрязнении углеводородами, но не могут прийти к единому мнению относительно изменений структуры и численности биоценоза [1, 2, 10–13]. Однако в литературе отсутствует единая точка зре-

ния на то, каким образом изменяется структура и численность микробного сообщества почвы, т.к. одни авторы обнаруживают, что при увеличении доз нефти в почве возрастают общая численность бактерий, количество углеводородоокисляющих микроорганизмов и численность микромицетов, а численность актиномицетов постепенно снижается, другие исследователи показывают, что увеличивается доля бактерий, но снижается количество и разнообразие актиномицетов и грибов [14]. Такие расхождения данных возможны из-за влияния на численность микроорганизмов, помимо загрязнения, других факторов окружающей среды. Структура и численность сообщества микроорганизмов, разрушающих углеводороды, зависит от многих биотических и абиотических факторов, среди которых наиболее значимы концентрации загрязняющих веществ, способность микроорганизмов быстро и адекватно адаптироваться к изменившимся условиям их обитания и более раннего наличия в среде обитания подобных углеводородов [4, 15]. Увеличение численности углеводородоокисляющих микроорганизмов, автохтонных микроорганизмов, участвующих в минерализации гумусовых веществ, и микроскопических грибов может быть обусловлено присутствием субстратов, специфических для данных групп микроорганизмов, а также наличием у них ферментов, способных окислять углеводороды нефти [4].

Физическое и токсическое воздействие нефти на представителей аборигенной микробиоты приводит к изменениям в функционировании почвенных ферментов, подавляющее большинство которых выделяется в почву в результате жизнедеятельности различных микроорганизмов [5, 16]. Обнаружено, что углеводородное загрязнение почвы может вызвать как ингибирование, так и стимуляцию активности различных ее ферментов [17–20]. Некоторые исследователи полагают, что гидрофобные углеводороды почти не взаимодействуют с гидрофильными соединениями, в том числе с белками, поэтому в загрязненной нефтью почве активность ферментов не изменяется [21].

Угнетение различных групп микроорганизмов путем физического или токсического воздействия углеводородов сырой нефти может быть причиной снижения активности различных окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов черноземной почвы. Незначительное

повышение активности почвенной пероксидазы может быть обусловлено стимулированием развития аборигенных углеводородоокисляющих микроорганизмов, наблюдающимся при воздействии нефти на почву [20, 22].

В местах разливов сырой нефти или воздействия других органическими загрязнителями интенсивно развиваются бактерии, грибы или актиномицеты, способные к утилизации загрязняющих веществ [1], при этом изменяются закономерности существования и развития микробиоценоза почвы [23]. На начальных этапах воздействия нефти происходит угнетение различных показателей биологической активности почвы, продолжительность которого изменяется в зависимости от способа и интенсивности загрязнения углеводородами. Постепенно наблюдается восстановление нарушенных функций микробиоценоза почвы, которые проявляются в возрастании интенсивности дыхания, увеличении ферментативной активности, стимуляции развития микроорганизмов, что приводит к постепенному разложению контаминантов [22]. По мере уменьшения степени загрязнения почвы углеводородами нефти численность большинства групп микроорганизмов приближается к фоновым значениям, но численность углеводородоокисляющих бактерий достаточно долго остается более высокой, чем в незагрязненных нефтью почвах [1, 24], что может быть обусловлено изменением соотношения различных групп микроорганизмов, формирующих микробиоценоз почвы, под действием загрязняющих веществ.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Черноземная среднесуглинистая почва Самарской области содержит большое разнообразие родов микроорганизмов, способных окислять алканы, ароматические углеводороды, полициклические ароматические углеводороды и нефть. Наибольшую активность при деградации как отдельных углеводородов, так и сырой нефти в целом проявляют бактерии родов *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, мицелиальные грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium* и дрожжи рода *Candida*. Загрязнение сырой нефтью снижает активность окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов, а также уменьшает коэффициент гумификации черноземной среднесуглинистой почвы Самарской области.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Zamotaev I.V., Nikonova A.N., Ivanov I.V., Mikheev P.V. Chemical contamination and transformation of soils in hydrocarbon production regions // *Eurasian Soil Science*. 2015. Vol. 48. Issue 12. P. 1370–1382. <https://doi.org/10.7868/S0032180X1512014X>

2. Гасанова У.О. Воздействие нефтяного загрязнения на ферментативную активность и цел-

люлозоразлагающие микроорганизмы в серобурой почве // *Международный научно-исследовательский журнал*. 2019. N 3 (81). С. 52–58. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2019.81.3.007>

3. Киреева Н.А., Маркарова М.Ю., Щемелина Т.Н., Рафикова Г.Ф. Ферментативная и микробиологическая активность загрязненных нефтью глееподзолистых почв на разных стади-

ях из восстановления // Вестник Башкирского университета. 2006. Т. 11. N 4. С. 56–58.

4. Исакова Е.А. Особенности воздействия нефти и нефтепродуктов на почвенную биоту // Colloquium-journal. 2019. N 12 (36). С. 4–6. <https://doi.org/10.24411/2520-6990-2019-10325>

5. Бондарь П.Н., Леконцева И.В. Экологическая оценка состояния очищенной от нефтезагрязнений лесной почвы с применением микроорганизмов // Хвойные бореальной зоны. 2018. Т. 36. N 6. С. 568–573.

6. Margesin R. Potential of cold-adapted microorganisms for bioremediation of oil-polluted Alpine soils // International Biodeterioration and Biodegradation. 2000. Vol. 46. Issue 1. P. 3–10. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(00\)00049-4](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(00)00049-4)

7. Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins Co., 1994. 816 p.

8. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии М.: Наука, 2005. 252 с.

9. Логинова О.О., Данг Т.Т., Белоусова Е.В., Грабович М.Ю. Использование штаммов рода *Acinetobacter* для биоремедиации нефтезагрязненных почв на территории Воронежской области // Вестник ВГУ, Серия: Химия, биология, фармация. 2011. N 2. С. 127–133.

10. Терещенко Н.Н., Лушников С.В., Митрофанова Н.А., Пилипенко С.В. Особенности биологической рекультивации нефтезагрязненных и техногенно засоленных почв // Экология и промышленность России. 2005. N 6. С. 33–36.

11. Peressutti S.R., Alvarez H.M., Pucci O.H. Dynamics of hydrocarbon-degrading bacteriocenosis of an experimental oil pollution in Patagonian soil // International Biodeterioration and Biodegradation. 2003. Vol. 52. Issue 1. P. 21–30. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(02\)00102-6](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(02)00102-6)

12. Пархоменко А.Н., Стогниева А.А. Использование микробиологических показателей для оценки состояния почв в условиях антропогенного воздействия // Вестник Оренбургского государственного университета. 2017. N 12 (212). С. 90–93.

13. Черных Н.А., Баева Ю.И. Изменение численности и видового состава бактерий в нефтезагрязненных почвах // Экологическая химия. 2018. Т. 27. N 5. С. 246–252.

14. Микроорганизмы и охрана почв / под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1989. 206 с.

15. Wolicka D., Suszek A., Borkowski A., Bielecka A. Application of aerobic microorganisms in bioremediation in situ of soil contaminated by petroleum products // Bioresource Technology. 2009. Vol. 100. Issue 13. P. 3221–3227. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.020>

16. Kiss S., Dragan-Bularda M., Pasca D. Enzymology of the recultivation of technogenic soils // Advances in Agronomy. 1989. Vol. 42. P. 229–278. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60526-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60526-X)

17. Margesin R., Zimmerbauer A., Schinner F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities // Chemosphere. 2000. Vol. 40. Issue 4. P. 339–346. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00218-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00218-0)

18. Andreoni V., Cavalca L., Rao M.A., Nocerino G., Bernasconi S., Dell'Amico E., et al. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils // Chemosphere. 2004. Vol. 57. Issue 5. P. 401–412. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.06.013>

19. Emtiaz G., Abbasi S. Effect of DSO on microbial flora of soil // Isfahan University Research Journal. 2006. Vol. 74. P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2008.01.005>

20. Margesin R., Walder G., Schinner F. The impact of hydrocarbon remediation (diesel oil and polycyclic aromatic hydrocarbons) on enzyme activities and microbial properties of soil // Acta Biotechnologica. 2000. Vol. 20. Issue 3-4. P. 313–333. <https://doi.org/10.1002/abio.370200312>

21. Marin J.A., Hernandez T., Garcia C. Bioremediation of oil refinery sludge by landfarming in semiarid conditions: Influence on soil microbial activity // Environmental Research. 2005. Vol. 98. Issue 2. P. 185–195. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2004.06.005>

22. Boopathy R. Factors limiting bioremediation technologies // Bioresource Technology. 2000. Vol. 74. Issue 1. P. 63–67. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00144-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00144-3)

23. Ruberto L., Vazquez S.C., Mac Cormack W.P. Effectiveness of the natural bacterial flora of a hydrocarbon contaminated Antarctic soil // International Biodeterioration and Biodegradation. 2003. Vol. 52. Issue 2. P. 115–125. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(03\)00048-9](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(03)00048-9)

24. Greene E.A., Kay J.G., Jaber K., Stehmeier L.G., Voordouw G. Composition of soil microbial communities enriched on a mixture of aromatic hydrocarbons // Applied and Environmental Microbiology. 2000. Vol. 66. Issue 12. P. 5282–5289. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.12.5282-5289.2000>

## REFERENCES

1. Zamotaev IV, Nikonova AN, Ivanov IV, Mikhnev PV. Chemical contamination and transformation of soils in hydrocarbon production regions. *Eurasian Soil Science*. 2015;48(12):1370–1382. <https://doi.org/10.7868/S0032180X1512014X>

2. Gasanova UO. Influence of oil pollution on enzyme activity and cellulose-decomposing microorganisms in gray-drilled soil. *Mezhdunarodnyi*

*nauchno-issledovatel'skii zhurnal = International Research Magazine*. 2019;3:52–58. (In Russian) <https://doi.org/10.23670/IRJ.2019.81.3.007>

3. Kireeva NA, Markarova MY, Shchemelinina TN, Rafikova GF. Enzymatic and microbiological activity oil-contaminated northern soils at different stages of their restorations. *Vestnik Bashkirskogo universiteta = Bulletin of Bashkir University*. 2006;11

(4):56–58. (In Russian)

4. Isakova E.A. Features of influence of oil and oil products on soil biota. *Colloquium-journal*. 2019;12:4–6. (In Russian) <https://doi.org/10.24411/2520-6990-2019-10325>

5. Bondar PN, Lekonceva IV. Environmental assessment of the condition cleared from oil pollution of forest soil with application of microorganisms. *Khvoynye boreal'noi zony = Conifers of the boreal area*. 2018;36(6):568–573. (In Russian)

6. Margesin R. Potential of cold-adapted microorganisms for bioremediation of oil-polluted Alpine soils. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2000;46(1):3–10. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(00\)00049-4](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(00)00049-4)

7. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins Co.; 1994. 816 p.

8. Khaziev FK. *Methods of soil enzymology*. Moscow: Nauka; 2005. 252 p. (In Russian)

9. Loginova OO, Dang TT, Belousova EV, Grabovich MYu. Application of the strains of the genus *Acinetobacter* for bioremediations of oil-polluted soils on the Voronezh region territory. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya = Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2011;2:127–133. (In Russian)

10. Tereshchenko NN, Loushnikov SV, Mitrofanova NA, Peelipenko SV. The featured of biological restoration of oily and technogenically salted soils. *Ekologiya i promyshlennost' Rossii = Ecology and industry of Russia*. 2005;6:33–36. (In Russian)

11. Peressutti SR, Alvarez HM, Pucci OH. Dynamics of hydrocarbon-degrading bacteriocenosis of an experimental oil pollution in Patagonian soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2003;52(1):21–30. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(02\)00102-6](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(02)00102-6)

12. Parkhomenko AN, Stognieva AA. Evaluation of the state of soils using microbiological indicators in the antropogenic impact. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta = Vestnik of the Orenburg State University*. 2017;12:90–93. (In Russian)

13. Chernykh NA, Baeva Yul. Changes in the number and species of bacteria in oil-polluted soils. *Ekologicheskaya khimiya*. 2018;27(5):246–252. (In Russian)

14. Zvyagintsev DG (ed.) *Microorganisms and preservation of bedrocks*. Moscow: Moscow State

University Publishing house; 1989. 206 p. (In Russian)

15. Wolicka D, Suszek A, Borkowski A, Bielecka A. Application of aerobic microorganisms in bioremediation in situ of soil contaminated by petroleum products. *Bioresource Technology*. 2009;100(13):3221–3227. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.020>

16. Kiss S, Dragan-Bularda M, Pasca D. Enzymology of the recultivation of technogenic soils. *Advances in Agronomy*. 1989;42:229–278. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60526-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60526-X)

17. Margesin R, Zimmerbauer A, Schinner F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities. *Chemosphere*. 2000;40(4):339–346. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00218-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00218-0)

18. Andreoni V, Cavalca L, Rao MA, Nocerino G, Bernasconi S, Dell'Amico E, et al. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. *Chemosphere*. 2004;57(5):401–412. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.06.013>

19. Emtiazi G, Abbasi S. Effect of DSO on microbial flora of soil. *Isfahan University Research Journal*. 2006;74:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jpsep.2008.01.005>

20. Margesin R, Walder G, Schinner F. The impact of hydrocarbon remediation (diesel oil and polycyclic aromatic hydrocarbons) on enzyme activities and microbial properties of soil. *Acta Biotechnologica*. 2000;20(3-4):313–333. <https://doi.org/10.1002/abio.370200312>

21. Marin JA, Hernandez T, Garcia C. Bioremediation of oil refinery sludge by landfarming in semi-arid conditions: Influence on soil microbial activity. *Environmental Research*. 2005;98(2):185–195. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2004.06.005>

22. Boopathy R. Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresource Technology*. 2000;74(1):63–67. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00144-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00144-3)

23. Ruberto L, Vazquez SC, Mac Cormack WP. Effectiveness of the natural bacterial flora of a hydrocarbon contaminated Antarctic soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 2003;52(2):115–125. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(03\)00048-9](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(03)00048-9)

24. Greene EA, Kay JG, Jaber K, Stehmeier LG, Voordouw G. Composition of soil microbial communities enriched on a mixture of aromatic hydrocarbons. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000;66(12):5282–5289. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.12.5282-5289.2000>

#### **СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ**

**Руденко Елена Юрьевна**,  
д.б.н., доцент,  
профессор кафедры технологии пищевых  
производств и биотехнологии,  
Самарский государственный технический  
университет,

#### **INFORMATION ABOUT THE AUTHOR**

**Elena Yu. Rudenko**,  
Dr. Sci. (Biology), Associate Professor, Professor  
of the Department of Technology of Alimentary  
Productions and Biotechnology,  
Samara State Technical University,  
244, Molodogvardeyskaya St., Samara, 443100,

443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244,  
Российская Федерация,  
✉ e-mail: e\_rudenko@rambler.ru

Russian Federation,  
✉ e-mail: e\_rudenko@rambler.ru

***Заявленный вклад автора***

Руденко Е.Ю. выполнила экспериментальную работу, обобщила полученные результаты и написала рукопись. Автор имеет на статью исключительные авторские права и несет ответственность за плагиат.

***Конфликт интересов***

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

*Автор прочел и одобрил окончательный вариант рукописи.*

*Статья поступила в редакцию 01.10.2020;  
одобрена после рецензирования 27.11.2020;  
принята к публикации 30.11.2020.*

***Contribution of the author***

Elena Yu. Rudenko carried out the experimental work, analyzed the experimental results and prepared the text of the manuscript. Author has exclusive author's right and bear responsibility for plagiarism.

***Conflict interests***

The author declares no conflict of interests regarding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved by the author.*

*The article was submitted 01.10.2020;  
approved after reviewing 27.11.2020;  
accepted for publication 30.11.2020.*